



FACULTAD DE MEDICINA

UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

GRADO EN MEDICINA

TRABAJO FIN DE GRADO

Nanomateriales dirigidos al sistema nervioso central (SNC). Contribución de la nanotecnología al desarrollo de sistemas de administración de fármacos al cerebro.

Targeted nanomaterials to the central nervous system (CNS).
Nanotechnology contribution to the development of drug delivery systems to the brain.

Autora: Silvia del Olmo Martín

Directores:

Dra. Esperanza Padín González

Prof. Juan Carlos Villegas Sordo

Santander, Mayo 2020

ÍNDICE

ABSTRACT	3
1. INTRODUCCIÓN	4
2. LA BARRERA HEMATOENCEFÁLICA (BHE)	5
2.1. Anatomía de la BHE	5
2.2. Fisiología de la BHE	7
3. ESTRATEGIAS DE INTRODUCCIÓN DE AGENTES TERAPÉUTICOS AL CEREBRO	9
3.1 Métodos físicos	9
3.2 Métodos químicos	10
3.3 Métodos biológicos	11
4. NANOTECNOLOGÍA Y NANOMEDICINA	11
4.1 Nanomateriales como sistemas de administración de agentes terapéuticos al SNC	13
4.2. Conjugación de NMs con moléculas o ligandos para la administración de agentes terapéuticos a través de la BHE.....	16
5. SISTEMAS NATURALES QUE CRUZAN LA BHE Y SU USO EN LA NANOMEDICINA	17
5.1 Virus	18
5.2 Bacterias y toxinas bacterianas	20
5.3 Toxinas de eucariotas	22
6. NANOMEDICINA APLICADA AL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES DEL SNC	23
6.1 Alzheimer	24
6.2 Enfermedad de Parkinson	24
6.3 Infartos	25
6.4 Tumores cerebrales	26
7. CONCLUSIONES.....	27

RESUMEN

La barrera hematoencefálica (BHE) es una estructura biológica que previene el daño y la entrada de sustancias tóxicas al cerebro. Sin embargo, esta barrera obstaculiza la administración de medicamentos para el diagnóstico y tratamiento de enfermedades que afectan al sistema nervioso central (SNC). Estas enfermedades afectan a gran parte de la población, cada vez más envejecida, siendo los tratamientos actuales no del todo efectivos debido a que la mayoría de los agentes terapéuticos no han logrado atravesar dicho obstáculo fisiológico. Se necesitan, por tanto, nuevas formulaciones para lograr este fin. El surgimiento y desarrollo de la nanotecnología y la nanomedicina nos permite diseñar sistemas que ayuden a mejorar este propósito. En esta revisión se analiza la estructura anatómica y funcional de la BHE, así como las estrategias para traspasarla, los tipos de nanomateriales más usados, los sistemas naturales que traspasan la barrera y algunas enfermedades neurológicas que se pueden ver beneficiadas de la nanomedicina.

Palabras clave: barrera hematoencefálica, sistema de transporte, nanomedicina, nanopartículas, sistemas naturales.

ABSTRACT

The blood-brain barrier (BBB) is a biological structure that prevents damage and the entry of toxic substances into the brain. However, this barrier hinders the administration of drugs for the diagnosis and treatment of diseases that affect the central nervous system (CNS). These diseases affect a large part of the increasingly ageing population, and current treatments are not entirely effective due to the most therapeutic agents have not been able to overcome this physiological obstacle. Therefore, new formulations are needed to achieve this purpose. The emergence and development of nanotechnology and nanomedicine allows us to design systems that help us to achieve this purpose. This review analyzes the anatomical and functional structure of the BBB, as well as the strategies to cross it, the most used types of nanomaterials, the natural systems that cross the barrier and some neurological diseases that can benefit from nanomedicine.

Keywords: blood-brain barrier, drug delivery system, nanomedicine, nanoparticles, natural systems.

1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades neurológicas suponen un progresivo deterioro de la estructura y función de las células neuronales. Su creciente incremento, sobre todo en la población anciana, se está convirtiendo en una gran preocupación en las últimas décadas¹. Según un estudio de la Organización Mundial de la Salud (OMS), a nivel mundial la carga más alta respecto a frecuencia y morbilidad se debe a las enfermedades cerebrovasculares (55 %) seguidas de la enfermedad de Alzheimer y otras demencias (12 %), migraña (8,3 %), epilepsia (7,9 %), tétanos (7 %), meningitis (5,8 %). A nivel europeo, este tipo de afecciones representan más de un tercio del total de las enfermedades².

Las enfermedades neurológicas son aquellas que afectan al Sistema Nervioso, tanto al Sistema Nervioso Central (SNC) como al Sistema Nervioso Periférico (SNP), y por lo tanto a las funciones derivadas de ellos, variando la sintomatología según el tipo de enfermedad y las estructuras que se vean afectadas por ellas³. Los síntomas pueden incluir desde todos los tipos de dolor, hasta trastornos del sueño, consciencia, función mental (alteración de la memoria, afasia, agnosia...), función muscular (debilidad, temblor, parálisis, espasticidad...), sensibilidad (anestesia, disestesia, hipersensibilidad...) y sentidos especiales (vista, oído, olfato y gusto). Dentro de las enfermedades que afectan al SNC, alguno de los ejemplos más relevantes son: accidentes cerebrovasculares, enfermedades neurodegenerativas (Alzheimer, Parkinson, Esclerosis múltiple...), infecciosas (encefalitis), etc⁴.

Las enfermedades neurológicas suponen, además, un gran impacto económico. En 2010 se publicó un artículo en el que se analizó el coste de las 19 enfermedades neurológicas más relevantes a lo largo de un año en 30 países europeos, resultando en un coste económico total de 798 billones de euros. Además, el progresivo aumento de estas enfermedades supondrá que esta cifra siga aumentando⁵. El costo en miles de millones de € en 2010 de algunos de los principales trastornos del SNC fue: demencia, 105,2 €; enfermedad de Parkinson, 13,9 €; accidente cerebrovascular, 64,1 €; tumor cerebral, 5,2 € y esclerosis múltiple, 14,6 €⁶.

Además de la complejidad de estas patologías, hasta la fecha ninguno de los fármacos desarrollados ha llegado a ser del todo efectivo debido, en parte, a la presencia de la barrera hematoencefálica (BHE). Esta barrera protege al cerebro, de la entrada de toxinas, células circulantes y sustancias tóxicas a través de un sistema de permeabilidad específico. De esta forma, aproximadamente el 98 % de las pequeñas moléculas y casi la totalidad de las grandes son incapaces de alcanzar el cerebro¹. Debido a la dificultad de administración de medicamentos dirigidos al SNC por la presencia de la BHE, los graves síntomas de estas enfermedades y costes económicos que conllevan, es de gran relevancia el uso de estrategias eficaces en su diagnóstico y tratamiento.

La nanomedicina ha emergido como una nueva ciencia para contribuir al desarrollo de formulaciones que ayuden a mejorar estos propósitos. Las ventajas que presentan los nanomateriales (NMs) los hace excelentes candidatos para su aplicación en medicina. Los sistemas basados en NMs permiten transportar diferentes agentes terapéuticos, mejorando así la solubilidad de algunas formulaciones. Así, estos sistemas pueden combinarse con diferentes ligandos para que los medicamentos puedan llegar a la célula

o tejido de interés. Además, los NMs se pueden conjugar con moléculas sensibles a algún agente externo (como luz o campo magnético), permitiendo una liberación controlada del agente terapéutico que transporta. Todo ello permite usar dosis más bajas de medicamentos y disminuir los efectos secundarios en otros órganos o tejidos sanos⁷. La aplicación de este tipo de tecnología para el desarrollo de estrategias de liberación de fármacos podría liderar en un futuro no muy lejano las terapias de las enfermedades neurológicas por su facilidad para pasar la BHE⁸.

2. LA BARRERA HEMATOENCEFÁLICA (BHE)

El término "barrera hematoencefálica" fue introducido por Lewandowsky, basado en experimentos que demuestran que las sustancias neurotóxicas provocaban síntomas neurológicos solo después de aplicaciones intraventriculares, pero no cuando se inyectaban en el torrente sanguíneo. A finales de 1960, con el desarrollo de la microscopía electrónica, Reese y Karnovsky visualizaron que las células endoteliales del cerebro presentan uniones únicas intercelulares, constituyendo una barrera estructural que crea una frontera casi impermeable entre la sangre y el SNC⁹.

La BHE actúa en primera instancia regulando el intercambio entre la sangre circulante y el tejido nervioso, haciendo de restricción al acceso del parénquima nervioso de los múltiples compuestos que circulan en la sangre. Esta barrera fisiológica protege al cerebro de la entrada de compuestos tóxicos, manteniendo a las neuronas en un entorno caracterizado por unos valores de pH, temperatura, osmolaridad y concentración de metabolitos que apenas varían (homeóstasis cerebral), y que permiten el funcionamiento normal de estas células¹.

Por sus características anatomofisiológicas, la BHE presenta las siguientes principales funciones: **(1) Protege al cerebro** de compuestos y moléculas circulantes en la corriente sanguínea gracias a las bien consolidadas uniones estrechas del endotelio de los capilares cerebrales, lo cual provoca una estricta selección de las sustancias que pasarán a través de la BHE. **(2) Transporte selectivo** desde la red capilar al parénquima cerebral, siendo un mecanismo de intercambio bidireccional que provee al cerebro de los nutrientes esenciales y permite desechar los residuos generados en el cerebro, manteniendo la homeostasis del microambiente químico del SNC. **(3) Metaboliza o modifica** elementos de la sangre hacia el tejido nervioso y viceversa¹⁰.

2.1. Anatomía de la BHE

La BHE está formada por **células endoteliales** que son necesarias para su correcta formación y para la interacción con las células adyacentes. En comparación con la vasculatura periférica, las células endoteliales de la BHE se caracterizan por un mayor contenido mitocondrial, falta de fenestraciones y mínima actividad pinocitótica (tipo de endocitosis por invaginación de la membrana plasmática que transporta las vesículas hacia el interior celular)¹¹. (Figura 1).

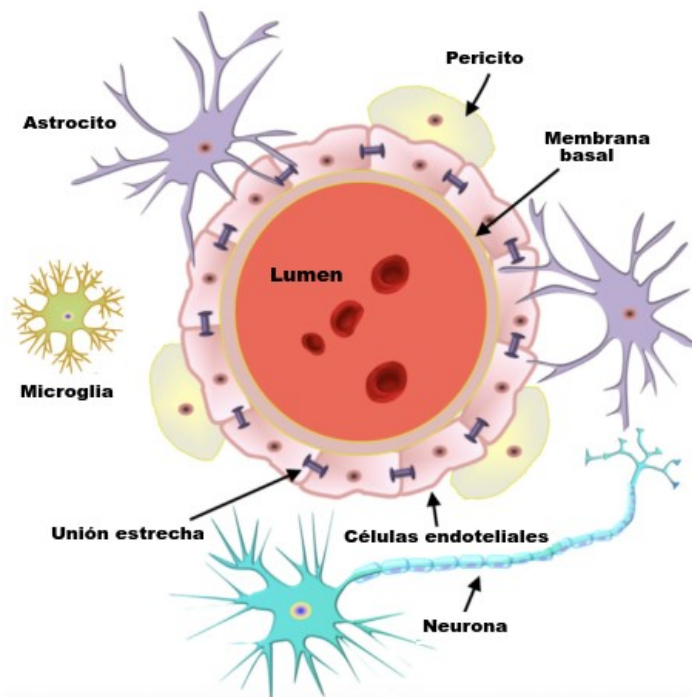


Figura 1. Estructura de la BHE. Se observa un vaso sanguíneo, irrigando el cerebro, que posee BHE, la cual está constituida por células endoteliales con uniones estrechas, rodeadas de pericitos, astrocitos y microglía. Adaptado de Bhowmik A, et al.¹².

La permeabilidad restringida de las células endoteliales está garantizada principalmente por dos sistemas de unión molecular intercelular: las uniones adherentes (AJs, del inglés “*adherens junctions*”) y las uniones estrechas (TJs, del inglés “*tight junctions*”); aunque también tienen una especial relevancia las uniones de hendidura (del inglés “*GAP junctions*”).

Las **uniones adherentes** son un tipo de contacto adhesivo célula-célula que usan un dímero de cadherina que se une a la catenina como mediador principal del contacto. Su apertura y cierre regulan la permeabilidad endotelial. Los cambios en la expresión de proteínas de estas uniones contribuyen a aumentar la permeabilidad de la BHE y la infiltración de leucocitos en el SNC¹³. Por su parte, las **uniones estrechas** limitan la difusión paracelular de solutos e iones a través de la BHE y dirigen el tráfico molecular por la vía transcelular. Estas uniones consisten principalmente en tres proteínas de membrana principales: ocludina, claudina y moléculas de adhesión¹³. Además, las **uniones de hendidura** forman hemicanales entre las células endoteliales, comunicando a estas últimas entre sí. Asimismo, también funcionan para mantener la integridad de las uniones estrechas¹⁴.

Otro tipo de células que forman parte de la BHE son los astrocitos, los pericitos y la microglía. Los **astrocitos** son células gliales que ayudan a las neuronas controlando las concentraciones de neurotransmisores e iones para mantener el equilibrio homeostático del microambiente neural. Modulan la transmisión sináptica y las reacciones inmunes¹. Por su parte, los **pericitos** regulan la integridad de la BHE, las uniones adherentes y la transcitosis, así como la expresión de moléculas que aumentan

la permeabilidad vascular¹². También pueden regular la fagocitosis, la eliminación de metabolitos tóxicos del SNC, el diámetro capilar, la neuroinflamación, el tráfico de leucocitos hacia el cerebro, y la actividad de células madre multipotentes¹¹. Por último, las células de la **microglía** son las células inmunes del SNC, distribuidas ubicuamente por éste y activadas en respuesta a inflamación sistémica, trauma y varias patologías neurológicas; migran a estos tejidos neurológicos dañados y los fagocitan¹⁵. La activación de la microglía se asocia a alteraciones de la expresión de las proteínas de las uniones estrechas y al incremento de la permeabilidad de la BHE¹¹.

El endotelio del cerebro dota a la BHE de una superficie de 20 m² para sus múltiples funciones. El espacio entre las células endoteliales aparece como continuo con múltiples anastomosis a través de una serie de redes intramembranas de hebras que interactúan con las proteínas de las uniones estrechas en las células endoteliales adyacentes. De esta forma, la transferencia de solutos e iones entre el cerebro y la sangre está bloqueada por la fusión de uniones estrechas¹.

2.2. Fisiología de la BHE

Debido a la existencia de la BHE, la práctica totalidad de macromoléculas y cerca del 98% de las micromoléculas no pueden pasar al tejido cerebral *per se*. Sólo aquellas moléculas con un peso molecular inferior a 600 daltons, con menos de 6 aminoácidos y moléculas solubles en lípidos serán capaces de atravesarla¹⁶. No obstante, existen varios mecanismos de transporte para que moléculas pequeñas y macromoléculas crucen la BHE (Figura 2).

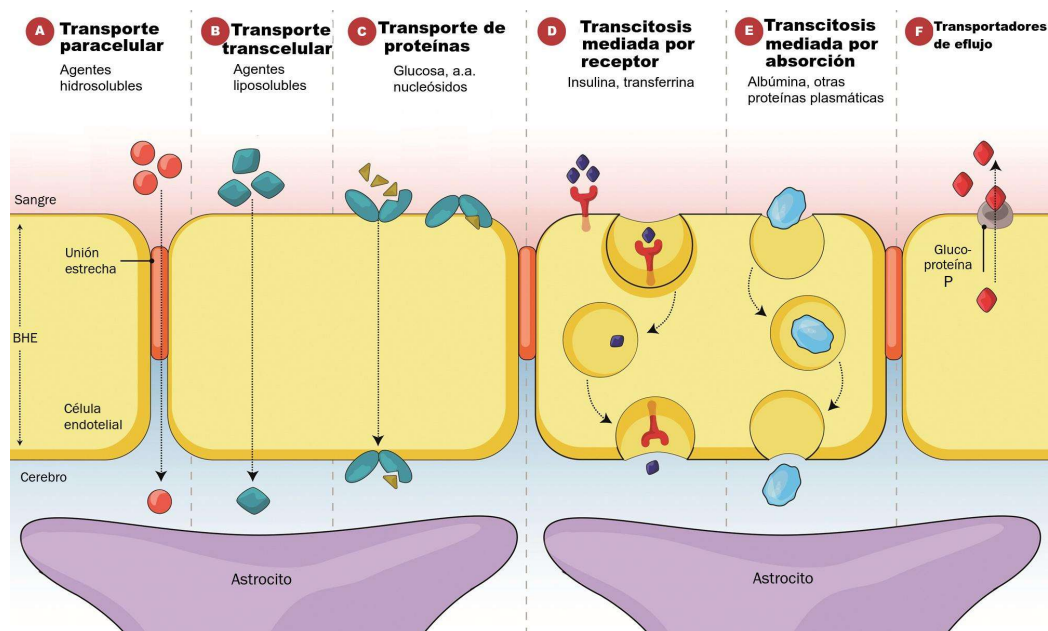


Figura 2: Rutas de transporte a través de la BHE. Adaptado de Lily E.¹⁷.

Para moléculas pequeñas, existen dos rutas independientes de mecanismos externos para cruzar la BHE. En primer lugar, pequeñas moléculas hidrofílicas pueden atravesar este obstáculo fisiológico mediante **transporte paracelular** (a través de vía acuosa). No obstante, este mecanismo está limitado por la regulación de la relajación transitoria de las uniones estrechas entre las células endoteliales¹. En segundo lugar, se ha demostrado que pequeñas moléculas lipofílicas y gaseosas (como O₂ y CO₂), se introducen en el tejido cerebral a través de la **difusión transcelular** (disolviéndose en su membrana lipídica), un mecanismo no saturable que permite el paso libre siguiendo la concentración de gradientes^{4, 21}.

Para el resto de moléculas pequeñas y para la casi totalidad de las macromoléculas, los mecanismos para cruzar la BHE requieren de transportes específicos^{18,19}:

- **Transporte de proteínas o transcitosis mediada por transportador:** se produce la unión de un soluto (ej: glucosa, aminoácidos, nucleósidos) a un transportador de proteínas que se encuentra en un lado de la membrana, produciéndose un cambio conformacional en la proteína cuyo resultado es el transporte de la sustancia al otro lado de la membrana.
- **Transcitosis mediada por receptor:** es el medio para el transporte selectivo de macromoléculas. Las células endoteliales tienen receptores para la captación de muchos tipos diferentes de ligandos, incluyendo factores de crecimiento, enzimas y proteínas plasmáticas. Estos sistemas incluyen receptores de transferrina, insulina, lipoproteína o toxinas.
- **Transcitosis mediada por absorción:** funciona gracias a la interacción electrostática entre una sustancia cargada positivamente y la superficie de membrana cargada negativamente. Este mecanismo no tiene una alta afinidad, pero sí una mayor capacidad de transporte que la transcitosis mediada por receptor.
- **Transportes de eflujo:** son responsables de eliminar fármacos del cerebro y uno de los mayores obstáculos para la acumulación de grandes cantidades de moléculas activas en el cerebro. La glicoproteína P es un ejemplo de un potente transportador de eflujo dependiente de energía, que proporciona una gran contribución al eflujo de los xenobióticos del cerebro a la sangre, siendo así un importantísimo protector cerebral.

Aunque el endotelio de la BHE es el mayor obstáculo para el transporte de sustancias a nivel cerebral, la actividad de los pericitos, de la membrana basal y de los astrocitos también contribuye a la regulación del transporte de la BHE bajo condiciones fisiológicas y puede actuar como una defensa en sustitución del endotelio si este estuviese comprometido²².

El estudio de estos mecanismos de transporte ha sido esencial para comprender como funciona la BHE y para desarrollar estrategias que permitan administrar agentes terapéuticos al cerebro. Este aspecto será desarrollado en el siguiente apartado.

3. ESTRATEGIAS DE INTRODUCCIÓN DE AGENTES TERAPÉUTICOS AL CEREBRO.

Desde hace décadas se han hecho grandes esfuerzos para administrar fármacos y agentes diagnósticos al cerebro. Existen varias técnicas en uso y otras en investigación para realizar este cometido²⁰. A modo general, las estrategias que se usan para alcanzar la BHE se clasifican en dos vías principales¹:

Vía invasiva: vía a través de la cual se administran drogas directamente al cerebro de forma quirúrgica. Aunque no causemos toxicidad sistémica y demos la dosis ideal requerida, las inyecciones cerebrales se basan en la difusión cerebral, la cual es concentración-dependiente y desciende desde el lugar de administración.

Vía no invasiva: se basa en un abordaje sistémico, incluyendo las rutas principales: la nasal y la sistémica. No obstante, hay enormes limitaciones como la permeabilidad concreta de la droga y efectos sistémicos no deseados.

De una forma un poco más detallada, las vías más clásicamente usadas incluyen ¹⁶:

- **Administración intracraneal** (inyecciones directas): las inyecciones pueden conseguir altas concentraciones a nivel local de los fármacos y se evita la afectación sistémica de estos. No obstante, esta técnica es altamente invasiva, tienen grandes efectos secundarios y son difíciles de realizar.
- **Administración nasal:** de bajo riesgo, no invasiva y fácil de realizar. No obstante, la cantidad de fármacos que se consigue administrar al cerebro es baja y la eficacia depende del paciente a tratar.
- **Inyección arterial de soluciones osmóticas:** aunque se alcanzan grandes concentraciones del fármaco, su administración requiere anestesia general y tiene grandes efectos adversos debido a que el fármaco se distribuye a lo largo de la circulación sanguínea, pudiendo tener efectos más allá del lugar deseado. Es una técnica compleja e invasiva.
- **Lipidación de fármacos** (de pequeñas moléculas): es una técnica fácil de realizar y tiene distribución a todo el cerebro; no obstante, sólo puede realizarse con fármacos que puedan ser esterificados fácilmente.

Estos métodos presentan varias limitaciones ya que la mayoría de ellos son de vía invasiva y podrían conllevar riesgo de infección o trauma cerebral, además de una distribución holocraneal y no localizada que puede dar liberación del fármaco a la sustancia blanca, lo cual es un efecto altamente indeseable¹⁶.

A continuación, se explicarán otros métodos más actuales para mejorar el transporte de fármacos al SNC.

3.1. Métodos físicos

Entre los métodos físicos el más destacado es el ultrasonido focalizado (FUS) por su buena resolución en tiempo y espacio y por el poco daño que causa¹⁶. El FUS es una técnica no invasiva, que se usa en combinación con microburbujas gaseosas y guiado

por resonancia magnética transcraneal. Esta técnica permite un aumento transitorio de la permeabilidad de la BHE debido a la disrupción de las uniones estrechas de los capilares. De esta forma se incrementa específicamente la biodisponibilidad de los agentes terapéuticos en la zona donde se dirige la energía FUS (Figura 3)²¹.

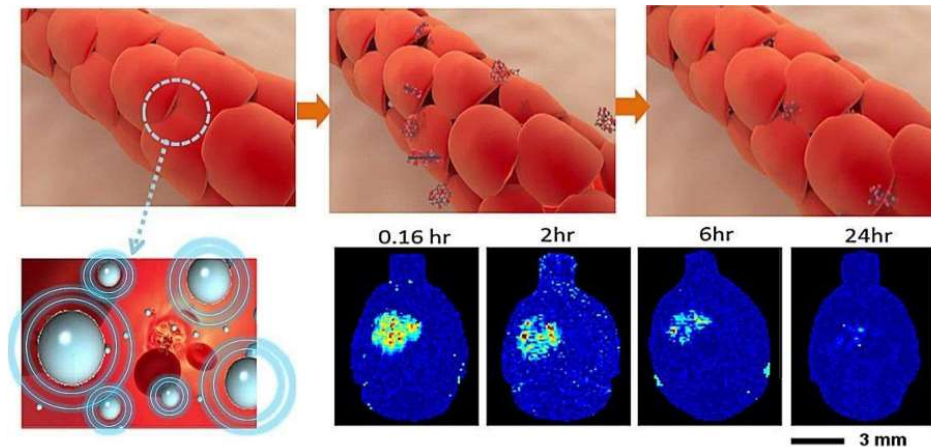


Figura 3. Mecanismo de funcionamiento del FUS. La interacción de microburbujas y el FUS interrumpe transitoriamente las uniones estrechas de la luz capilar para permitir que los agentes terapéuticos penetren en el cerebro. La BHE vuelve a la normalidad unas horas después de la exposición a FUS. En la imagen se observa la captación cerebral en la resonancia magnética con contraste dinámico a diferentes horas, con una gran expansión inicial y disminución de la distribución de la sustancia hasta llegar casi a cero a las 24 horas. Imagen tomada de Chen K, et al. ²¹.

No obstante, a largo plazo este método podría producir daños en las células endoteliales, encontrando en algunos casos fenómenos de hemorragia o coagulación térmica que dependerán de la duración y la frecuencia de repetición del FUS¹⁶.

3.2. Métodos químicos

Los métodos químicos son aquellos que modifican las propiedades físico-químicas del fármaco para dotarlo de propiedades que le faciliten una mejor penetración en el cerebro. Los métodos químicos actuales para cruzar la BHE se dividen en:

- Modificación química del medicamento para formar un profármaco. Los profármacos son derivados de moléculas de fármacos que experimentan una transformación enzimática y/o química. Esta transformación principalmente consiste en dotar a los fármacos de una superficie lipotrópica y favorecer el paso a través de la BHE ¹⁶ para liberar el fármaco original activo, que será el que ejerza el efecto deseado²².
- Acoplamiento de los medicamentos con manitol o sustancias aromáticas (como borneol y almizcle). El manitol añadido puede inducir una alta presión osmótica

para abrir la BHE temporalmente y las sustancias aromáticas podrían cruzar la BHE como medicamento de reanimación¹⁶.

3.3. Métodos biológicos

Aunque, como se explicó anteriormente, la mayoría de las moléculas tienen su entrada restringida al cerebro por la presencia de la BHE y sus uniones estrechas, existen varios mecanismos biológicos a través de los cuales algunas sustancias necesarias son capaces de pasar al interior del SNC. El conocimiento de estos mecanismos es esencial para el desarrollo de fármacos que permitan una mejor penetración a través de la BHE.

El ketoprofeno (un antiinflamatorio de gran potencia analgésica), por ejemplo, se puede unir químicamente al aminoácido tirosina para que sea reconocido por la proteína transportadora LAT1, permitiendo su entrada mediante transcitosis mediada por portador. Otro ejemplo es la unión del paclitaxel con un péptido de la toxina diftérica (el angiopep-2), que permite la entrada al SNC mediante transcitosis mediada por receptor¹⁶.

Otra estrategia que se ha utilizado es unir antibióticos a inhibidores de la glicoproteína-P (Gp-P) para mejorar las acumulaciones de los fármacos a nivel intracelular. Un ejemplo lo constituye el tariquidar (un inhibidor de Gp-P), que se utilizó para superar la resistencia bacteriana al ciprofloxacino. Como resultado se observó un aumento de la sensibilidad de la bacteria al antibiótico en presencia de tariquidar, ya que éste aumentó las concentraciones de ciprofloxacino intracelularmente^{23,24}.

A pesar de los avances en el desarrollo de estrategias para atravesar la BHE, en los últimos años, sólo un 3-5 % de fármacos dirigidos al cerebro han llegado a comercializarse, debido a que la mayoría no pudieron cruzar la BHE *in vivo*²⁵. Con el surgimiento de la nanotecnología y la nanomedicina, se espera que se puedan desarrollar nuevas formulaciones que ayuden a hacer frente a los tratamientos convencionales, mejorando los sistemas de diagnósticos y terapia de las enfermedades que afectan al sistema nervioso.

4. NANOTECNOLOGÍA Y NANOMEDICINA

El concepto de la nanotecnología fue propuesto por primera vez por el físico premio Nobel de Física, Richard P. Feynman, en 1959 en su artículo: *"There's Plenty of Room at the Bottom. An invitation to enter a new field of physics."* Aunque el término "nano" no aparece como tal, este artículo se considera el texto fundador de la nanotecnología, ya que en él se desarrolla la visión de manipular y controlar mecanismos a pequeña escala, augurando que sería posible organizar los átomos como se desease gracias a la base de mecánica cuántica y el uso de microscopios más precisos²⁶.

El término “nanotecnología” es definido por la Iniciativa Nacional de Nanotecnología como “la comprensión y el control de la materia en dimensiones entre aproximadamente 1 y 100 nanómetros”⁸ (Figura 4).

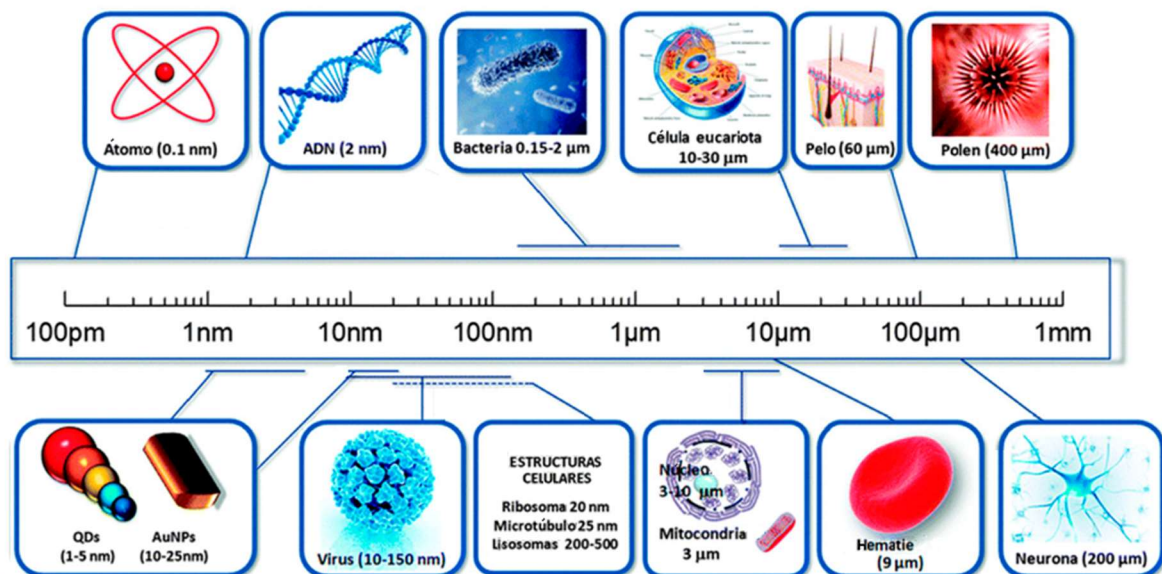


Figura 4: Comparación del tamaño de los nanomateriales. Adaptado de Bayda S, et al.²⁷.

Por su parte, la nanomedicina es la aplicación de la nanotecnología a las ciencias de la salud²⁸. Según la *European Science Foundation*: “La nanomedicina utiliza herramientas de tamaño nanométrico para el diagnóstico, prevención y tratamiento de enfermedades y para obtener una mayor comprensión de la compleja fisiopatología subyacente de la enfermedad. El objetivo final es mejorar la calidad de vida”²⁹.

Dentro de los NMs, las nanopartículas (NPs) presentan especial interés. Estos nanosistemas son transportadores coloidales que tienen la capacidad de mejorar potencialmente la entrega de medicamentos, pudiendo encapsular fármacos y dirigirlos al tejido diana de forma controlada y precisa^{25,30}. La administración de agentes terapéuticos mediante NPs presentan numerosas ventajas en comparación con los tratamientos convencionales:

- La mayoría de estos nanosistemas son biodegradables y biocompatibles, lo que aumenta su protección contra la degradación, así como un mayor acceso a compartimentos biológicos³¹.
- Se puede mejorar la solubilidad, la difusión e inmunogenicidad del fármaco en los tejidos³⁰.
- Se puede aumentar la especificidad en la célula, tejido u órgano de interés mediante la unión de ligandos de direccionamiento, permitiendo una administración dirigida en el compartimento deseado, con lo que se reduce la toxicidad en otros órganos o tejidos sanos⁷.

- Permiten la liberación controlada del medicamento y garantizan el mantenimiento de los niveles del fármaco plasmático dentro de los rangos terapéuticos. Evita la necesidad de administración continua de concentraciones elevadas de drogas en el paciente, con lo que se reduce la toxicidad y el coste de los tratamientos⁷.

4.1. Nanomateriales como sistemas de administración de agentes terapéuticos al SNC

Varios aspectos deben ser considerados para la administración de agentes terapéuticos al SNC: (1) los NMs deben ser biodegradables y capaces de eliminarse del cerebro; (2) se debe desarrollar un método de preparación uniforme para hacer que las NPs sean homogéneas y predecibles; (3) los factores que influyen en el comportamiento *in vivo* de las NMs deben ser bien aclarados y evaluados, y (4) dotar de la máxima especificidad³².

Actualmente existen muchos tipos de NMs con características físico-químicas diferentes. De entre ellos, a continuación, se comentan los más relevantes que se han utilizado para administración de fármacos al SNC (Figura 5).

- **Dendrímeros**. Son estructuras poliméricas que tienen un núcleo central de donde emergen múltiples ramas. La superficie de estas NPs presentan grupos funcionales que permiten su conjugación con moléculas de direccionamiento, por ejemplo, haciéndolos más versátiles y biocompatibles³³. Los dendrímeros de poliamidoamina son los dendrímeros más estudiados para el tratamiento de enfermedades neurológicas. Estos dendrímeros conjugados con polietilenglicol se han utilizado como vehículos para la administración de medicamentos y reducción de la coagulación de la sangre en el tratamiento del accidente cerebrovascular. También se ha conseguido ralentizar y prevenir la enfermedad de Alzheimer con dendrímeros de fósforo catiónico que alteran las agregaciones de β amiloide y Tau^{1,34}.
- **NPS poliméricas**. Son coloides sólidos que se componen de una matriz central en la que se pueden incrustar fármacos, con tamaños generalmente entre 10 nm hasta casi 1 μ m³⁵. El cianoacrilato de polibutilo (PBCA), el ácido poliláctico (PLA) y el ácido poliláctico-co-glicólico (PLGA) son los sintéticos más utilizados, y además son polímeros totalmente biocompatibles y biodegradables¹¹. Un ejemplo de este tipo de NPs son de PLGA con un fármaco antituberculoso. Estas NPs conjugadas se administraron a ratones, observándose que se mantenían altos niveles de fármaco durante 9 días en el cerebro, siendo estos valores mucho más elevados que con el resto de las administraciones comparadas. Además, la administración de 5 dosis de la formulación de NP (contra 46 dosis de fármacos sistémicos convencionales) dieron como resultado bacterias indetectables en las meninges³⁷.
- **Micelas poliméricas**. Están formadas por copolímeros anfipáticos cuya agregación en medios acuosos conduce a estructuras esféricas con una cubierta hidrófila y un núcleo hidrófobo y con un buen grado de estabilidad. Las características modificables de las micelas poliméricas hacen posible que estas respondan a

estímulos externos (pH, luz, temperatura, ultrasonido, etc.), lo que desencadena una liberación controlable de fármacos. Las micelas tienen la ventaja de poder administrar moléculas poco solubles en agua, proporcionando una liberación sostenida y controlada, así como estabilidad química y física de los fármacos. Se ha descrito la posibilidad de utilizar estas NPs de micelas cargadas de curcumina para su administración en el tratamiento del glioma y en la enfermedad de Alzheimer^{1, 37}.

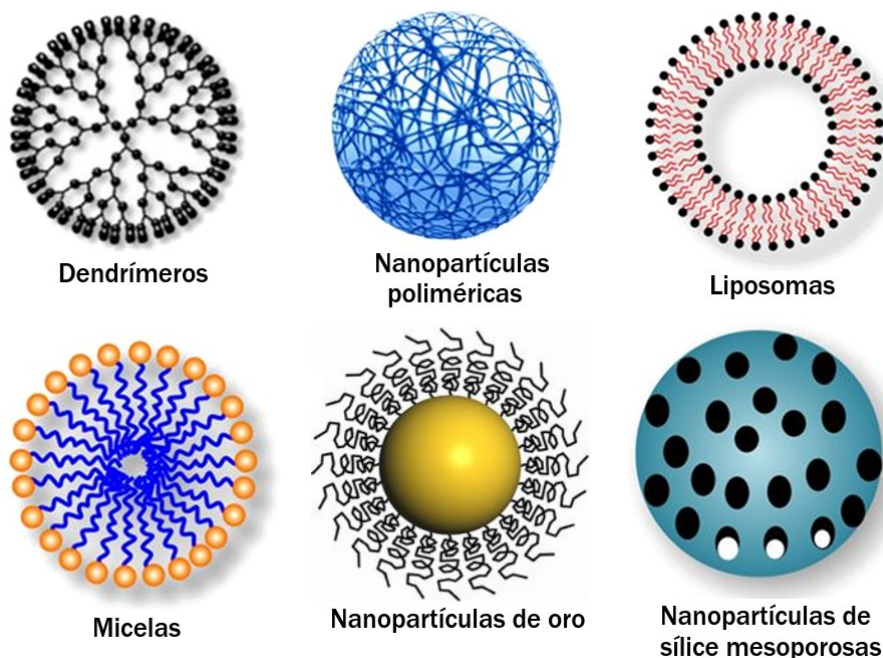


Figura 5. Diferentes tipos de NPs, utilizadas en la administración de fármacos al SNC.
Adaptado de Singh AP, et al.^{37,38}.

- **Liposomas.** Son vesículas esféricas compuestas de una membrana lipídica de dos capas, generalmente con un núcleo de solución acuosa y ligeramente más grandes (tamaños desde 30 nm a varios micrómetros) que las NPs convencionales³⁹. Al manipular su formulación utilizando lípidos de diferentes longitudes de cadena de ácidos grasos, los liposomas pueden construirse para ser sensibles a la temperatura o al pH para permitir la liberación controlada de sus contenidos. Los liposomas sensibles a la temperatura pueden liberar el contenido del medicamento en pocos segundos al generarse la hipertermia. Además, la administración mediante liposomas tiene los beneficios derivados de que estos estén formados por los componentes de las membranas celulares humanas, lo que les hace más biocompatibles, menos tóxicos, más biodegradables y no inmunogénicos.³⁹ Por ejemplo, se utilizaron liposomas cargados con doxorubicina resultando en regresiones completas de xenoinjertos de tumores humanos en todos los ratones estudiados⁴⁰.
- **Nanopartículas de oro.** Estas NPs son inertes y no tóxicas. Las NPs de oro más utilizadas presentan un rango de tamaño de 10-20 nm (sobre todo para la administración cerebral)¹¹. Están recubiertas principalmente por moléculas que le

permiten una fácil funcionalización y adición de diversas biomoléculas, como fármacos, ligandos dirigidos y genes⁴¹. Las NPs de oro son muy utilizadas en la terapia fototérmica, ya que pueden convertir eficientemente la luz en calor. Se elige luz infrarroja debido a la absorción mínima por los tejidos en estas longitudes de onda, que es suficiente para inducir daño citotóxico.⁴¹ Además, esta terapia ha demostrado ampliamente su capacidad para actuar sola o sinérgicamente con otras terapias convencionales como la quimioterapia (ya que altera la BHE y aumenta la concentración del fármaco en el área del tumor). Por ejemplo, ya hay varios resultados prometedores en el tratamiento del glioblastoma en los modelos preclínicos⁴².

Además, las propiedades de las NPs de oro también facilitan el diagnóstico por imagen. Esta imagen se genera al inyectar millones de NPs de oro funcionalizadas directamente al tumor, donde se unen específicamente a las células cancerosas y se dispersan (brillan), lo que facilita la identificación del tumor y diferenciarlo de las células sanas⁴¹. Gracias a su uso se ha demostrado una mejoría en la administración de fármacos al cerebro en la enfermedad de Parkinson y de Alzheimer. Además, se ha estudiado el efecto del tamaño de NPs de oro recubiertas de insulina sobre la capacidad de atravesar la BHE, siendo las más pequeñas, con un diámetro de 20 nm, las que presentaron mejor distribución y acumulación en el cerebro^{1,34}.

- **Nanopartículas de sílice mesoporosa**. Las NPs de sílice mesoporosa tienen propiedades muy interesantes, como tener una gran superficie y baja densidad. La liberación del fármaco se puede regular por un sistema que permite la apertura y el cierre de los poros según sea conveniente por dos tipos de estímulos: externos y por medio de diferencias en las condiciones químicas de los entornos celulares externo-interno (como pH, fotoirradiación o temperatura)^{40,42}. Este tipo de NPs cargadas con doxorubicina se utilizaron en el tratamiento de glioblastoma en ratones, donde además se funcionalizaron con un ligando dirigido al tumor. Las NPs fueron capaces de penetrar la BHE e interrumpir la irrigación de las células cancerígenas murinas privándolas de la nutrición necesaria y antagonizando las células cancerosas con alta selectividad y precisión; viendo una mayor eficiencia y selectividad de estas NPs en comparación con la administración clásica de doxorubicina libre⁴³.

Los recubrimientos de sílice han sido ampliamente utilizados para mejorar la estabilidad y aumentar las ventajas de otro tipo de NPs, como por ejemplo las NPs de oro recubiertas de sílice mesoporosa. Entre estas ventajas destacan una buena capacidad de conversión fototérmica y una alta capacidad de carga de fármacos. Al contrario de las NPs de oro generadoras de calor, este tipo de NPs mostraron una mejor estabilidad y capacidad de conversión fototérmica después de la irradiación repetitiva de luz infrarroja⁴⁴.

Además de los ejemplos comentados, actualmente existen ensayos clínicos basados en la administración de NPs a través de la BHE. Por ejemplo, en un estudio se realizó una formulación de liposomas catiónicos unidos a un anticuerpo que reconoce el receptor

de transferrina. Estos liposomas encapsulan el gen p53, con el objetivo de restaurar su función (ya que sus mutaciones pueden afectar a la eficacia de los tratamientos estándar contra el cáncer como la radiación y la quimioterapia)⁴⁵. También hay otro ensayo clínico con irinotecan pegilado, que está actualmente aprobado por la FDA para el cáncer metastásico de páncreas y que se está estudiando para tumores sólidos cerebrales⁴⁵.

4.2. Conjugación de NMs con moléculas o ligandos para la administración de agentes terapéuticos a través de la BHE

Con el objetivo de mejorar el transporte de agentes terapéuticos a través de la BHE, los NMs se pueden conjugar con diferentes moléculas o ligandos: (i) ligandos o moléculas que median la adsorción de proteínas de la sangre, las cuales interactúan con los receptores de la BHE; (ii) ligandos que tienen interacción directa *per se* con receptores de la BHE o transportadores, y (iii) ligandos que aumentan la carga e hidrofobicidad²⁵:

(i) Ligandos o moléculas que median la adsorción de proteínas de la sangre, las cuales interactúan con los receptores de la BHE. Dentro de este primer grupo podemos incluir al polisorbato 80, que puede adsorber la apolipoproteína E y / o A-I. El polisorbato permite la unión de apolipoproteínas sanguíneas cuya interacción con los receptores de lipoproteína expresados en el endotelio cerebral permite el cruce de la BHE. Por ejemplo, NPs de PBCA (cianoacrilato de polibutilo) recubiertas con polisorbato 80 permitieron la administración cerebral de una cantidad de medicamentos que no pueden atravesar la BHE en forma libre. La eficacia de este sistema de administración de fármacos se demostró con mayor claridad al estudiar la doxorubicina unida a PBCA. Las NPs recubiertas con polisorbato 80 produjeron un efecto anti-tumoral elevado frente a glioblastoma intracraneal en ratas⁴⁶.

(ii) Ligandos que tienen interacción directa *per se* con receptores de la BHE o transportadores. Se incluyen ligandos dirigidos a proteínas receptoras, como el receptor de transferrina (péptido de transferrina, proteína de transferencia o anticuerpo contra transferrina), receptor de insulina, o transportador de glucosa, entre otros²⁵.

(iii) Ligandos que aumentan la carga e hidrofobicidad. Por ejemplo, el recubrimiento de NPs con péptidos anfifílicos, para facilitar la absorción por las células endoteliales de la BHE. De esta forma, se conjugaron NPs de oro con el péptido anfipático CLPFFD (péptido Cys-Leu-Pro-Phe-Phe-Asp). En comparación con las NPs sin conjugar, el conjugado con CLPFFD mejoró el suministro al cerebro, aumentando la concentración de oro en cuatro veces, además no alteró la integridad de la BHE y no tuvo ningún efecto sobre la viabilidad celular⁴⁷.

Además de los ligandos comentados, los NMs se pueden unir a moléculas para mejorar su tiempo de circulación sanguínea y biodisponibilidad. Se sabe que cuando los NMs entran en un medio biológico, se produce una rápida adsorción de proteínas en su superficie, formando un recubrimiento proteico denominado biocorona. Este recubrimiento determina el comportamiento del NM, afectando a su direccionamiento y eliminación. De esta forma, muchos NMs son eliminados rápidamente de la sangre a

través del sistema reticuloendotelial, lo que disminuye la disponibilidad de los NMs para su acumulación en el cerebro. Con el objetivo de disminuir este efecto, se han utilizado algunas moléculas como el PEG^{48,49,54}.

No obstante, el uso de PEG también se ha relacionado con algunos efectos adversos como: (1) la producción de hipersensibilidad, por su efecto inmunogénico y antigénico; (2) aumento de la vacuolización en los tejidos; (3) heterogenicidad de los fármacos pegilados (cada fármaco se verá afectado de una forma diferente por la pegilación); (4) en caso de NPs conjugadas con proteínas, se puede producir una pegilación de estas, que puede alterar su estructura y/o función, y (5) si el PEG es ramificado puede tener una viscosidad aumentada, disminuyendo la vida media de las proteínas unidas a las NPs⁵⁰.

Por otra parte, la condición de la enfermedad y su progresión también deben considerarse en el diseño de NPs cuando se utilizan estrategias dirigidas activamente. Los ligandos se seleccionan para atacar de forma activa un receptor de internalización en el lado apical de las células endoteliales cerebrales. Sin embargo, la expresión de receptores y los mecanismos de transporte pueden cambiar durante el curso de la enfermedad. Por ejemplo, en la neurodegeneración del cerebro se pierde el sistema de proteínas reguladoras de hierro (regulan la expresión del receptor de transferrina), por lo que habrá deficiencia de hierro y las NPs dirigidas a los receptores de transferrina no serán un sistema efectivo para administrar medicamentos al cerebro en este caso concreto²⁰.

5. SISTEMAS NATURALES QUE CRUZAN LA BHE Y SU USO EN LA NANOMEDICINA

Mientras la BHE ha evolucionado para evitar que gran parte de los agentes que circulan por la sangre lleguen al SNC, los patógenos también han evolucionado hasta crear multitud de estrategias para traspasar esta barrera fisiológica. Algunos de estos organismos, como virus y ciertas bacterias, ingresan al SNC de forma completa. Otros patógenos, como bacterias eucariotas, secretan toxinas que interaccionan preferentemente con las neuronas para ejercer una amplia gama de efectos biológicos. El aislamiento del componente mínimamente necesario de la proteína que permite el neurotropismo de estos sistemas, logra el direccionamiento neuronal sin efecto perjudicial. De esta forma, los péptidos neurotrópicos que tienen potencial como vector pueden unirse como ligandos a los NMs para dirigirlos hacia el SNC y que crucen la BHE, desarrollándose así nanotransportadores más eficientes que los convencionales^{51,52}.

En el momento actual, los materiales basados en productos naturales se consideran los elementos clave en la preparación y procesamiento de nuevas nanoformulaciones porque tienen exaltadas ciertas características de cara al resto de NMs, como el ser biodegradables, biocompatibles, disponibles, renovables y de baja toxicidad³⁰. Nos fijaremos en los sistemas de estos patógenos “evasores” para usar sus mecanismos en la administración de fármacos, ya que sus estrategias para llegar al SNC podrían facilitarnos en gran medida la administración de fármacos a este nivel.

5.1. Virus

Los virus son los primeros nanotransportadores específicos de la naturaleza, ya que depositan su carga bioactiva dentro de poblaciones celulares e intracelulares determinadas⁵¹. Debido a esto y a varias de sus propiedades, como la de su pequeño tamaño, se han usado como referencia para crear sistemas artificiales de administración de fármacos (Figura 6).

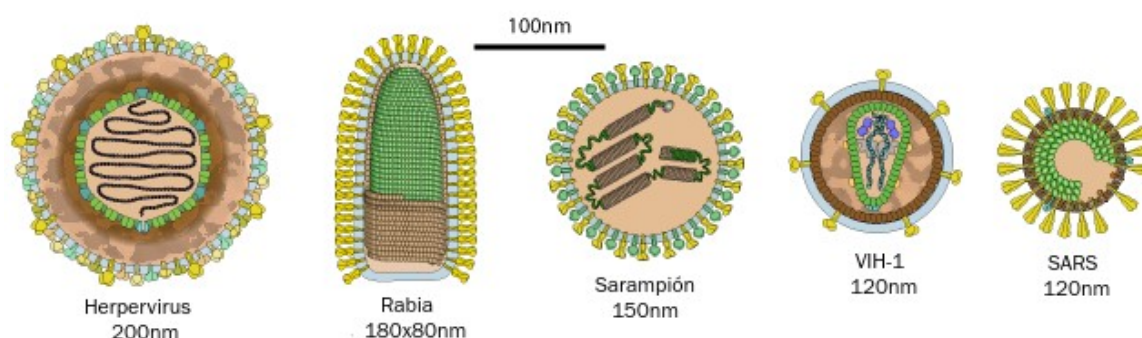


Figura 6. Tamaños y morfologías de algunos de los virus más comunes. Imagen tomada de Viralzone.

Muchos virus están desnudos o sin envoltura, aunque siguen teniendo las proteínas de la cápside para la interacción con las células diana. Otros virus están envueltos (obtienen una bicapa lipídica al pasar a través de membranas de las células huésped), lo que puede alterar la forma y la flexibilidad de las partículas virales. Gracias a que la bicapa lipídica es derivada del huésped, se facilita la evasión inmune, la interacción con las células diana y la propagación del virus de forma no destructiva⁵¹.

Las NPs basadas en virus (VNP) utilizan virus previa eliminación de cualquier ácido genómico nucleico, lo que las hace no infecciosas. Después de haberse eliminado el genoma se aprovechan las características intrínsecas que tienen los componentes del virus para generar las VNP⁵³.

Las VNPs son sistemas de autoensamblaje realmente robustos, se pueden producir grandes cantidades en poco tiempo y además son programables⁵³. Asimismo, dado que las VNPs están compuestas principalmente de proteínas, son altamente biocompatibles, biodegradables y con capacidad de cruzar barreras biológicas. Además, las proteínas de las cubiertas de los virus son estables y resistentes a la degradación fisicoquímica, lo cual es una ventaja para el desarrollo de VNPs porque significa que tienen una larga vida útil y pueden resistir ciertas condiciones extremas que puedan darse en el organismo⁵⁴.

Los virus han evolucionado para interactuar con proteínas celulares específicas, entregar su carga de ácido nucleico y secuestrar la maquinaria intracelular para producir los componentes de los virus de la progenie. Esta propiedad es utilizada también por las VNPs para la entrega de otras moléculas como fármacos. Además, los virus se replican rápidamente, lo que permite su fabricación económica⁵⁴. Estas propiedades han llevado al desarrollo de VNPs basadas en virus de mamíferos para su uso en terapia génica, pero

es difícil descartar los efectos patogénicos resultantes de las interacciones naturales entre el virus y el huésped, como la alta inmunogenicidad⁵⁵.

En contraste, las VNPs basados en bacteriófagos y virus vegetales se consideran más seguros porque incluso los virus completamente funcionales no pueden infectar a los humanos⁵⁴. Existen varios virus neurotrópicos que pueden penetrar selectivamente la BHE e infectar el SNC. Las proteínas virales que facilitan la invasión del SNC son, por lo tanto, un punto de partida interesante para dirigir el tropismo de los nanotransportadores diseñados para tratar enfermedades humanas⁵¹.

Un ejemplo de virus usados para la administración de fármacos al cerebro es el virus de la rabia. **El virus de la rabia** interacciona con receptores localizados en las uniones neuromusculares, debido a la saliva de un huésped infectado, donde se produce el transporte retrógrado al cerebro a través de las neuronas motoras (Figura 7).

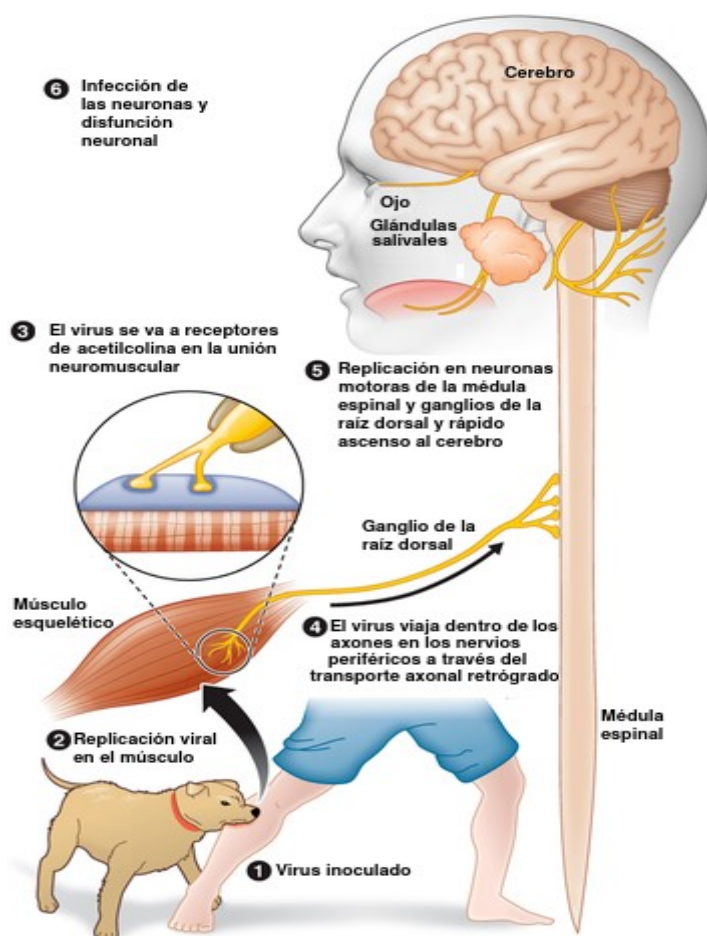


Figura 7. Patogénesis de la infección del virus de la rabia. Adaptado de J.L Jameson, et al. ⁵⁶.

La envoltura del virus está compuesta por una membrana lipídica derivada del huésped, una proteína matriz y una glicoproteína (Figura 6)⁵¹. La glicoproteína del virus de la rabia (RVG) es un elemento esencial para su infectividad, ya que es la responsable de la unión a las células diana, facilitando la entrada del virus específicamente entre las uniones neuromusculares a través de la interacción con receptores neuronales⁵⁷.

Un ejemplo del uso de esta glicoproteína para la administración de fármacos en el SNC es en la enfermedad de Parkinson (EP). En la EP el depósito excesivo de hierro en el cerebro causante de necrosis de las neuronas dopaminérgicas se trata con un quelante del hierro: la deferoxamina (DFO). No obstante, la DFO muestra una vida media muy corta *in vivo* y apenas penetra la BHE. Por lo tanto, se ha estudiado un sistema basado en una NP híbrida de lípido-polímero biocompatible modificado con un fragmento de RVG, un péptido de 29 aminoácidos, que puede administrar DFO al SNC. Estas NPs penetran la BHE a través de endocitosis mediada por receptor. La administración de estas NPs disminuye significativamente el contenido de hierro y los niveles de estrés oxidativo en la sustancia negra y el cuerpo estriado y reduce el daño neuronal dopaminérgico, revirtiendo sus déficits neuroconductuales, sin causar ningún efecto adverso en el cerebro u otros órganos. Esta, por lo tanto, es una nanoformulación prometedora para el suministro al SNC de quelantes de hierro y con un interesante potencial en el tratamiento de la EP⁵⁸.

5.2. Bacterias y toxinas bacterianas

Algunas bacterias son capaces de llegar al SNC, ya sea directamente a través de interacciones proteína-receptor, a través de células inmunes, o al alterar la permeabilidad de la BHE⁵¹.

- **Clostridium tetani y Clostridium botulinum**

La toxina tetánica neurotrópica (TeNT) es secretada por *Clostridium tetani* e ingresa al SNC a través de uniones neuromusculares para causar la parálisis espástica conocida como tétanos. La toxina se divide en 3 componentes principales: una cadena ligera y 2 cadenas pesadas. La virulencia de la toxina se origina a partir de la cadena ligera, que previene la liberación de los neurotransmisores inhibidores del SNC, GABA (ácido γ -aminobutírico) y glicina a nivel sináptico, causando excitación de las motoneuronas y por lo tanto espasmos musculares dolorosos⁵¹. Las cadenas pesadas por sí mismas no son tóxicas y facilitan la translocación de la cadena ligera, la unión a las células neuronales y el transporte retrógrado (de las uniones neuromusculares al axón y de ahí a las dendritas) (Figura 8)⁵⁹. Por ejemplo, se modificó la toxina tetánica y se conjugó con NPs de polímeros de PLGA (ácido poliláctico-co-glicólico)-PEG-biotina, observándose una alta capacidad de unirse a las células del neuroblastoma, dejando abierta la posibilidad de envío farmacológico a través de estas NPs tan concretas y específicas⁵⁰.

Dada su acción de dirección neuronal, la toxina tetánica es una buena candidata para facilitar el suministro de fármacos a las neuronas. No obstante, un gran desafío para su aplicación en humanos aún por resolver es que la vacunación promueve la eliminación rápida de los agentes unidos a la toxina tetánica por las células inmunes⁵¹. No obstante, la separación de las funciones de toxicidad y focalización por escisión enzimática o métodos de clonación molecular han permitido la investigación *in vivo* evitando el desarrollo del tétanos clínico⁵⁹.

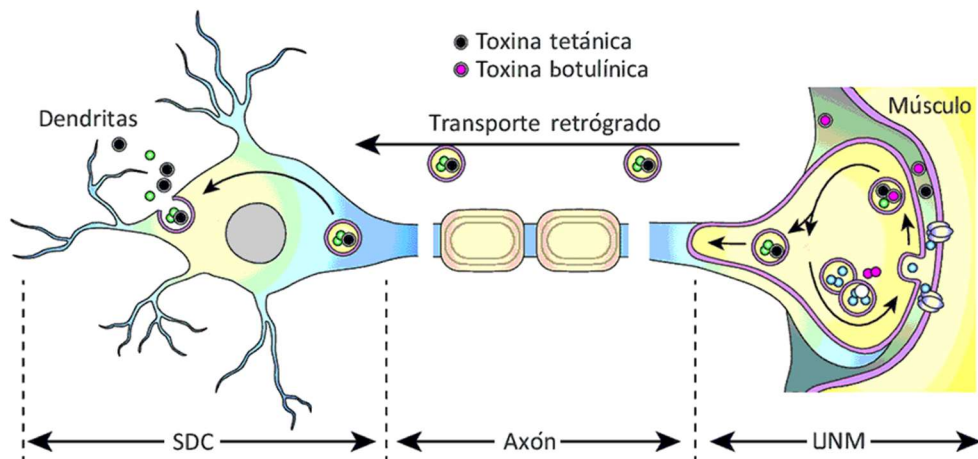


Figura 8. Mecanismo de transporte de la neurotoxina botulínica y tetánica. La imagen muestra una neurona motora ilustrando tres compartimientos principales: la unión neuromuscular (UNM), el axón y el compartimento dendrítico (SDC). Representación del trayecto de la neurotoxina botulínica (trayecto de vesículas sinápticas locales hacia el SNP) y la toxina del tétanos en neuronas motoras (transporte retrógrado a las dendritas). Adaptado de Ovsepián S V, et al.⁶⁰.

La toxina botulínica es más potente aún que la tetánica, y la inmunización contra la bacteria es infrecuente en humanos, por lo que cabría esperar una importante esperanza en este medio. Sin embargo, la toxina botulínica ejerce su efecto primario sobre el sistema nervioso periférico en las terminales nerviosas colinérgicas; la cuestión de si podría lograr la entrada de CNS aún no se ha resuelto.

- **Listeria**

Tanto en el cerebro sano como en el enfermo, los leucocitos que circulan periféricamente entran al parénquima cerebral para la vigilancia inmunológica del SNC. Las bacterias, los virus y los protozoos son capaces de infectar a los leucocitos como un medio para lograr el paso a la BHE. Este proceso se denomina mecanismo de "caballo de Troya" y es un punto de entrada bien caracterizado para *Listeria monocytogenes*⁵¹.

Es más, la propagación célula-célula de monocitos o leucocitos infectados a células endoteliales es más importante aún para el cruce de la BHE por *listeria* que la infección directa por bacterias libres en el torrente sanguíneo⁶¹.

Estos datos sugieren que la entrada es mediada principalmente por las células inmunes circulantes, hecho que deja abierta una poderosa línea de investigación basada en la implicación del sistema inmune en posibles estrategias de nanotransportadores⁶¹. Por ejemplo, se estudió una formulación basada en macrófagos cargados con catalasa, un potente antioxidante. La intención era que estos macrófagos pudiesen servir como tratamiento de trastornos neurodegenerativos (como las enfermedades de Parkinson y Alzheimer) y accidente cerebrovascular, ya que estos trastornos cursan con inflamación cerebral y producción excesiva de radicales libres tóxicos para las neuronas. Tras la administración en ratones con inflamación cerebral se observó que los macrófagos

administrados por vía sistémica tendían a migrar a regiones de inflamación y neurodegeneración, se acumularon en cantidades terapéuticamente relevantes y entregaron la catalasa al cerebro del ratón⁶².

- **Borrelia, Escherichia coli y otros**

Los mecanismos que facilitan la infección por *Borrelia* en el SNC incluyen la evasión inmune, la degradación de la matriz extracelular a través de la activación de las enzimas de la célula huésped y el paso directo a través de la BHE. Estas actividades están coordinadas por un conjunto muy diverso de proteínas de superficie como la decorina, la fibronectina, las integrinas, los glicosaminoglicanos y las moléculas adhesivas borreliales, que promueven la interacción del patógeno con las células huésped para lograr el tropismo del tejido⁵¹. En particular, la decorina se expresa en el SNC y las células endoteliales cerebrales. Una fuerte afinidad de *Borrelia* neuroinvasiva por la decorina sugiere que esta proteína podría tener un papel central en la colonización del SNC, actualmente en estudio de sus posibilidades terapéuticas⁶³.

Por otra parte, estudios recientes han demostrado que las cepas de *E. coli* que causan meningitis exhiben la capacidad de penetrar la BHE por un mecanismo transcelular, invadiendo las células endoteliales microvasculares del cerebro humano sin afectar su integridad ni la permeabilidad de la barrera. Asimismo, involucra interacciones específicas con el huésped y con las moléculas de señalización de este⁶⁴. La proteína A de membrana externa (OmpA) y fimbrias tipo 1 (FimH) en la superficie de *E. coli* se unen a proteínas en la superficie de las células endoteliales microvasculares del SNC, lo que conduce a un reordenamiento del citoesqueleto para permitir la invasión de patógenos⁵¹. El factor de necrotización citotóxico 1 (CNF1), factor de virulencia bacteriana, contribuye a la invasión de *E. coli* y la penetración en el cerebro⁶⁴.

Otro ejemplo es el receptor de laminina (LamR), que está en el punto de mira de estudios nanotecnológicos actualmente, ya que actúa como un receptor importante para que múltiples patógenos neurotrópicos alcancen la BHE, tanto bacterianos como virales: *E. coli*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* y *Haemophilus influenzae*. Los dominios de unión a ligando en estos organismos para LamR se conservan estructural y generalmente en asas de porinas expuestas en la superficie de la membrana bacteriana⁵¹.

5.3. Toxinas de eucariotas

Las toxinas secretadas en los venenos de animales a menudo contienen mezclas complejas de moléculas orgánicas y proteínas que actúan de diversas maneras para afectar la función celular.

- **Serpientes**

Un caso especial es el de la neurotoxina de la cobra (NTC), un péptido aislado del veneno de serpiente de *Naja naja atra*, que muestra efectos analgésicos centrales. Para ayudar a que la NTC pase en mayor proporción a través de la BHE y mejorar sus efectos analgésicos en el SNC, se prepararon nanocápsulas de NTC mediante doble emulsión con lecitina de soja y colesterol como caparazón y feofórbido para hacer a la NP fotosensible. Los efectos analgésicos (que se evaluaron mediante estímulos dolorosos en ratones) mejoraron después de la inyección de NTC. La activación del feofórbido por la luz roja aplicada en la región nasal generó especies reactivas de oxígeno que abrieron las nanocápsulas y ayudaron a que mayor cantidad de NTC ingresara al cerebro de los ratones⁶⁵.

- **Escorpiones**

Se ha determinado la secuencia de aminoácidos de al menos 250 neurotoxinas individuales, siendo la mayoría compuestas de péptidos unidos por disulfuros. Estos péptidos se dirigen principalmente a canales iónicos⁴³. La clorotoxina (CTX) es un péptido particularmente interesante tomado del veneno del escorpión *Leiurus quinquestriatus*, que bloquea los canales iónicos selectivos de cloruro y tiene una gran especificidad histológica para el tumor cerebral primario. Dado el variado tropismo de las neurotoxinas de escorpión para receptores específicos que se expresan en el SNC y SNP, hay un alto potencial de la terapia dirigida⁵¹. Basándose en esto, se utilizaron NPs de óxido de hierro superparamagnético conjugadas con metotrexato y CTX. Las NPs se unieron de forma exitosa al tejido tumoral, observándose una acumulación preferencial y una mayor citotoxicidad hacia las células de glioma en ratones⁶⁶.

6. NANOMEDICINA APLICADA A TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES DEL SNC

Desde hace varias décadas, los trastornos neurológicos representan una de las mayores preocupaciones en la salud mundial, representando la segunda causa de muerte en todo el mundo⁶⁷. Esta situación se ha agravado en los últimos 25 años debido al aumento de la población y al envejecimiento (ya que habrá sobre todo más enfermedades neurodegenerativas) y continuará agravándose en las próximas décadas debido a un mayor aumento de la esperanza de vida, indicándose en varios estudios que el número de personas mayores de 65 años aumentará a casi mil millones en 2030^{30,68}.

Aun así, las estrategias empleadas no han sido suficientemente exitosas para su tratamiento. Una de las causas por las que se carece de este éxito actualmente es que no solo hay que crear un componente químicamente activo, sino que tiene que ser capaz de alcanzar sitios específicos dentro del SNC, atravesando para ello la BHE⁶⁷. No obstante, la BHE puede verse alterada en diferentes lesiones neurológicas, que lleva a la perpetuación de la inflamación y a la neurodegeneración de las estructuras implicadas. De esta forma, será importante considerar estas modificaciones como una oportunidad para diseñar sistemas de administración de fármacos más eficientes²⁵.

Teniendo en cuenta todos los factores mencionados, la nanomedicina se postula como una nueva y potente herramienta para el tratamiento de estas enfermedades⁶⁹. Así lo veremos en los siguientes ejemplos.

6.1 Alzheimer

La enfermedad de Alzheimer (EA) es el trastorno neurodegenerativo más frecuente, y se caracteriza por la acumulación de placas de β -amiloide y ovillos neurofibrilares, déficit colinérgico, y aumento del estrés oxidativo. La formación de fibrillas de β -amiloide es un proceso de auto-ensamblaje dependiente de la nucleación con una cinética sigmoidea, donde el proceso se inicia con una fase de retraso (formación crítica del núcleo del oligómero) seguida de una elongación (polimerización del oligómero) y maduración de las fibrillas. Los marcadores más importantes en la patología de EA incluyen la acumulación excesiva de β -amiloide y proteínas tau fosforiladas (P-tau). Una de las posibles estrategias terapéuticas implica la eliminación de tales depósitos^{70,68}.

Hasta la fecha, varios medicamentos han sido aprobados para esta enfermedad por la FDA: Tres inhibidores de la colinesterasa (rivastigmina, galantamina, donepezilo) e inhibidores NMDA (memantina). No obstante, estos tratamientos son sólo de naturaleza sintomática, no curativa^{72,73}.

Existen algunos ejemplos prometedores del uso de la nanotecnología en la administración de fármacos al SNC en la EA. Se realizó un diseño con un sistema de NPs de lipoproteínas de alta densidad reconstituido por apolipoproteína E3 para eliminar β -amiloide. Se observó que estas NPs alcanzaban el cerebro del ratón una hora después de su inyección intravenosa. Además, después de 4 semanas de tratamiento diario los depósitos de β -amiloide, microgliosis, cambios neurológicos y los déficits de memoria disminuyeron⁷².

Otro ejemplo con NPs de curcumina (la cual tiene efectos terapéuticos en el Alzheimer) recubiertas con PLGA (soluble en agua) conjugadas con un péptido de 12 aminoácidos, que tiene las características de unión de la toxina tetánica y que es capaz de entrar de forma retrógrada en las células neuronales⁷⁴. El complejo resultante manifestó la capacidad de eliminar agregados β -amiloides. Estos experimentos mostraron que el uso de estas NPs aumenta la concentración del fármaco 6 veces en el tejido cerebral en relación con el método de administración convencional, mejorando la estabilidad del fármaco en las células y la memoria⁷⁵.

6.2 Enfermedad de Parkinson

La enfermedad de Parkinson (EP) es el segundo trastorno neurodegenerativo más frecuente después de la enfermedad de Alzheimer³¹. Esta enfermedad se caracteriza por la muerte de neuronas dopaminérgicas en la sustancia negra. Además, su sello patológico distintivo es el cuerpo de Lewy, una inclusión neuronal que consiste principalmente en agregaciones de proteínas de α -sinucleína⁷⁶.

La interrupción de la BHE en el curso de esta enfermedad se desencadena por la liberación de mediadores inflamatorios y el estrés oxidativo, jugando ambos papeles críticos de contribución en la patología de la EP, remodelando las proteínas de unión y

causando una "apertura" transitoria de las células endoteliales⁷⁷. Además, la glicoproteína P está regulada negativamente, evitando así la salida de muchos sustratos tóxicos del SNC y, por lo tanto, la característica destrucción de las neuronas dopaminérgicas. Dado que la dopamina es un neurotransmisor esencial del SNC y un mensajero químico periférico, su agotamiento evita que los nervios motores realicen su función correctamente (movimiento y coordinación)¹⁵.

Los tratamientos más usados, como la levodopa (reemplaza a la dopamina), inhibidores selectivos de la monoaminoxidasa (metabolizador de la dopamina), amantidina o anticolinérgicos (reducen temblores), producen efectos secundarios significativos y además no detienen la progresión de la enfermedad³¹.

Un ejemplo de la aplicación de nanomedicina a esta enfermedad fue la administración intracraneal de NPs poliméricas (ftalato de acetato de celulosa), cargadas con dopamina, que resultó un suministro sostenido de fármacos. La eficiencia máxima de atrapamiento de dopamina fue del 63%, y su pico fue más alto en el día 3, tanto en el líquido cefalorraquídeo como en el plasma de las ratas, manteniendo un nivel adecuado de hasta 30 días. También se ha probado la implantación intraestriatal de NPs de sílice cargadas de dopamina, comprobándose una reversión de los síntomas en ratas parkinsonianas sin efectos secundarios observables⁷⁶.

6.3 Infartos

El accidente cerebrovascular puede conducir a un estado de discapacidad a largo plazo en la edad adulta que afecta a aproximadamente 0,8 millones de personas/año en el mundo. Debido a la hemorragia de un vaso o a la oclusión vascular de un coágulo de sangre se produce una carencia de suministro de sangre. Esta privación de oxígeno y nutrientes conduce a la muerte de las células cerebrales, a la disfunción de las neuronas y finalmente a la muerte del paciente⁷⁸.

Para reducir la lesión cerebral a través del reabastecimiento de sangre y la activación del endotelio, el reclutamiento de leucocitos, la producción de citoquinas y ROS y la formación de edema pueden conducir a una apertura de la BHE, lo que podría aprovechar para la administración de medicamentos⁷⁸. Entre algunas estrategias nanotecnológicas que se han utilizado, las NPs de platino se han empleado como radicales libres y captadores de especies reactivas de oxígeno en ratones *in vitro* e *in vivo*, mejorando así el estrés oxidativo generado en condiciones isquémicas. En modelos con ratones, las NPs de platino mejoraron el funcionamiento motor y disminuyeron el volumen de infarto de la corteza. Por otra parte, también se observó una reducción del activador tisular de plasminógeno (Tpa) que en estas condiciones induce daño clínico y patológico^{79,80}.

También se han estudiado las propiedades antioxidantes de las NPs de óxido de cerio (CeO). Se probaron estas NPs en un modelo de accidente cerebrovascular en roedores demostrándose que las NPs reducen la muerte celular isquémica en aproximadamente un 50% y la producción de radicales libres (los cuales producen daño celular)^{79,80}.

6.4 Tumores cerebrales

A pesar de los avances quirúrgicos y médicos, el cáncer sigue representando una de las mayores preocupaciones en salud pública; siendo según la Sociedad Americana del Cáncer causante de una de cada seis muertes a nivel global y esperándose 27.5 millones de pacientes para el 2040. El pronóstico para la mayoría de los pacientes con cáncer cerebral sigue siendo sombrío ⁸¹.

En el campo de la nanooncología, la administración de fármacos puede ser pasiva o activa. La **pasiva** se basa en el aumento de la permeabilidad vascular y el efecto de retención para lograr la acumulación de fármaco en las células tumorales ⁸¹: efecto EPR (efecto mejorado de permeabilidad y retención, del inglés “*enhanced permeability and retention*”). El efecto EPR, descrito por primera vez por Maeda y Matsumura⁸², se basa en la alta permeabilidad vascular y el aclaramiento linfático defectuoso de los tejidos tumorales (con la progresiva acumulación de macromoléculas en sus tejidos). No obstante, los tumores grandes y avanzados tienen muchas áreas necróticas o vasos sanguíneos degenerados, por lo que el efecto EPR también exhibe un alto grado de heterogeneidad. De esta forma, con una disminución del flujo sanguíneo, el suministro de fármacos a estos grandes tumores es con frecuencia muy pobre. Por lo tanto, los desafíos para abrir los vasos sanguíneos del tumor son críticos y de gran importancia para la nanomedicina anticancerígena ⁸¹.

Por su parte, la administración **activa** se refiere a la acumulación de NPs específicas en el sitio de interés con estrategias específicas de administración activa de fármacos a través de diferentes formas de reconocimiento molecular específico como ligando-receptor o antígeno-anticuerpo ⁸¹.

Para tratar los tumores sólidos se utiliza la orientación pasiva debido a la mayor permeabilidad de los vasos sanguíneos y al drenaje linfático deficiente (permite la acumulación de fármacos dentro del microambiente tumoral). Para una terapia exitosa la NP ideal tendrá alrededor de 100 nm de diámetro y una superficie hidrofílica ⁸³.

Un ejemplo de la administración de fármacos en tumores cerebrales mediante el uso de las NPs lo constituye una NP de sílice funcionalizadas con un péptido de la toxina diftérica cargado con docetaxel dirigido a las células del glioblastoma. Además de cruzar la BHE, permanece en los tejidos tumorales y aumenta la supervivencia media en ratones con glioblastoma en los estudios realizados⁸¹. Otro ejemplo son NPs de oro pegiladas y conjugadas con un péptido transactivador de la transcripción génica del virus de la Inmunodeficiencia Humana 1. Estas NPs se cargaron con doxorubicina y se administraron de forma intravenosa *in vivo* a ratones con xenoinjertos de células tumorales en el cerebro. Después de 72 horas las NPs se acumularon dentro de los microsatélites tumorales en el parénquima cerebral sin acumulación significativa en el tejido normal, lo que resultó en una tasa de supervivencia media de 39 días en el grupo de tratamiento con estas NPs, en comparación con los grupos de tratamiento con doxorubicina libre a los 25 días⁸³.

7. CONCLUSIONES

La administración de fármacos a través de la BHE representa un importante reto debido a la presencia de este obstáculo fisiológico, responsable de la protección del cerebro frente a sustancias externas. Para poder progresar en la eficacia de los tratamientos de enfermedades neurológicas (como las neurodegenerativas, el ictus o el cáncer) se debe seguir fomentando e investigando estrategias para entender, modular y franquear los mecanismos de transporte y funcionamiento de la BHE. La nanomedicina juega un importante papel, ofreciéndose como una alternativa para resolver los principales problemas en el tratamiento de las enfermedades del SNC. Los NMs nos ofrecen la posibilidad de poderlos conjugar con moléculas de direccionamiento que actúen como ligandos de receptores localizados en la BHE, permitiendo de esta forma su entrada y mejorando su especificidad, causando, por tanto, una menor toxicidad en otros órganos o tejidos sanos. Dentro de estos ligandos, fragmentos de sistemas naturales como virus, toxinas o bacterias nos ofrecen una amplia librería de ligandos para llevar a cabo este propósito. No obstante, aunque algunos sistemas de administración basados en NMs han sido aceptados por la FDA, la mayoría se encuentran en periodo de investigación y de prueba, teniendo, sin embargo, unos prometedores resultados que abren nuevas posibilidades en el tratamiento de enfermedades neurológicas.

BIBLIOGRAFÍA

1. Teleanu DM, Chircov C, Grumzescu AM, Volceanov A, Teleanu RI. Blood-Brain Delivery Methods Using Nanotechnology. *Pharmaceutics*. 2018;10:269-284.
2. Andlin-Sobocki P, Jönsson B, Wittchen H-U, Olesen J. Costs of Disorders of the Brain in Europe. *Eur J Neurol*. 2005;12:1-27.
3. World Health Organization. Global burden of neurological disorders estimates and projection. In: *Neurological Disorders: Public Health Challenges*. ; 2006:26-39.
4. Levin MC, College of Medicine U of SM. Introducción a los síntomas de los trastornos cerebrales, medulares y nerviosos. Manual MSD. www.msdmanuals.com. Published 2019.
5. DiLuca M, Olesen J. The cost of brain diseases: A burden or a challenge? *Neuron*. 2014;82:1205-1208.
6. Gustavsson A, Svensson M. Cost of disorders of the brain in Europe 2010. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2011;21:718-779.
7. Celia C, Cosco D, Paolino D, Fresta M. Nanoparticulate Devices for Brain Drug Delivery. *Med Res Rev*. 2010:716-756.
8. Adaya DS, Aguirre-Cruz L, Guevara J, Ortiz-Islas E. Nanobiomaterials applications in neurodegenerative diseases. *J Biomater Appl*. 2017;31:953-984.
9. Haddad-Tóvulli R, Dragano NR V., Ramalho AFS, Velloso LA. Development and Function of the Blood-Brain Barrier in the Context of Metabolic Control. *Front Neurosci*. 2017;11:1-12.
10. Escobar A, Gonzalez BG. Barrera hematoencefálica. Neurobiología, implicaciones clínicas y efectos del estrés sobre su desarrollo. 2008;9:395-405.
11. Bors LA, Erdo F. Overcoming the Blood – Brain Barrier . Challenges and Tricks for CNS Drug Delivery. *Sci Pharm*. 2019;87:6.
12. Bhowmik A, Khan R, Ghos MK. Blood Brain Barrier : A Challenge for Effectual Therapy of Brain Tumors. *Biomed Res Int*. 2015;2015:320941.
13. García-Martín E, Barreto GE, Agundez J, Guedes RC, El-bachá ramon S. Editorial on Cerebral endothelial and glial cells are more than bricks in the great Wall of the brain: Insights into the way the blood-brain barrier actually works (celebrating the centenary of Goldman's experiments). *Front Cell Neurosci*. 2015;9:2014-2016.
14. Sweeney MD, Mon. Blood-Brain Barrier: From physiology to disease and back. *Physiol Rev*. 2019;99:21-78.
15. Furtado D, Bjornmalm M, Ayton C, I.Bush A, Kempe K, Caruso F. Overcoming the Blood – Brain Barrier : The Role of Nanomaterials in Treating Neurological Diseases. *Adv Mater*. 2018;1801362.
16. He Q, Liu J, Liang J, et al. Towards Improvements for Penetrating the Blood–Brain Barrier—Recent Progress from a Material and Pharmaceutical Perspective. *Cells*. 2018;7:24-45.
17. Brazil R. A barrier to progress : getting drugs to the brain. *Pharm J*. 2017;298:1-12.
18. Fu BM. Transport Across the Blood-Brain Barrier. *Springer Int Publ AG*. 2018;1097:235-259.
19. Chen Y, Liu L. Modern methods for delivery of drugs across the blood – brain barrier. *Adv Drug Deliv Rev*. 2012;64:640-665.
20. Dong X. Current Strategies for Brain Drug Delivery. *Theranostics*. 2018;8:1481-

- 1493.
21. Ko-Ting Chen K-CW and H-L Iiu. Theranostic Strategy of Focused Ultrasound Induced Blood-Brain Barrier Opening for CNS Disease Treatment. *Front Pharmacol.* 2019;10:1-14.
 22. Rautio K, Laine K, Gynther M, Savolainen J. Prodrug approaches for CNS delivery. *AAPS J.* 2008;10:92-102.
 23. Amin ML. P-glycoprotein Inhibition for Optimal Drug Delivery. *Drug Target Insights.* 2013;7:27-34.
 24. I Leitner, J Nemeth, T Feurstein *et al.* The third-generation P-glycoprotein inhibitor tariquidar may overcome bacterial multidrug resistance by increasing intracellular drug concentration. *J Antimicrob Chemother.* 2011;66:834-839.
 25. Saraiva C, Praça C, Ferreira R, Santos T, Ferreira L, Bernardino L. Nanoparticle-mediated brain drug delivery: Overcoming blood – brain barrier to treat neurodegenerative diseases. *J Control Release.* 2016;235:34-47.
 26. MG K, V K, F H, W W, R R. History and Possible Uses of Nanomedicine Based on Nanoparticles and Nanotechnological Progress. *J Nanomed Nanotechnol.* 2015;6:336-348.
 27. Bayda S, Adeel M, Tuccinardi T, Cordani M, Rizzolio F. The History of Nanoscience and Nanotechnology: From Chemical – Physical Applications to Nanomedicine. *Molecules.* 2020;25:112-127.
 28. Hawthorne gabriel H, PBernuci M, Bartolanza M, Issy AC, Del-Bel E. *Clinical Developments in Antimicrobial Nanomedicine: Toward Novel Solutions.* Elsevier Inc.; 2017.
 29. Astruc D. Introduction to Nanomedicine. *Molecules.* 2016;21:4-10.
 30. Jayanta Kumar Patra, Gitishree Das, Leonardo Fernandes Fraceto *et al.* Nano based drug delivery systems: Recent developments and future prospects. *J Nanobiotechnology.* 2018;16:16-71.
 31. Veloz-castillo maria fernanda, M.West R, Cordero-Arreola J, Arias-Carrión O, A.Mendez-Rojas M. Nanomaterials for Neurology: State-of-the-Art. *Bentham Sci.* 2017;52:1306-1324.
 32. Gao H. Progress and perspectives on targeting nanoparticles for brain drug delivery. *Acta Pharm Sin B.* 2016;6:268-286.
 33. P.Sherje A, Jadhav M, R.Dravyakar B, Kadam D. Dendrimers: A versatile nanocarrier for drug delivery and targeting. *Int J Pharm.* 2018;548:707-720.
 34. Banks WA. From blood – brain barrier to blood – brain interface: new opportunities for CNS drug delivery. *Nat Publ Gr.* 2016;15:275-292.
 35. Sharma M. *Transdermal and Intravenous Nano Drug Delivery Systems.* Elsevier Inc.; 2019.
 36. Masserini M. Nanoparticles for Brain Drug Delivery. *ISRN Biochem.* 2013;2013:1-18.
 37. Singh AP, Biswas A, Shukla A, Maiti P. Targeted therapy in chronic diseases using nanomaterial-based drug delivery vehicles. *Nature.* 2019;4:33-54.
 38. Kiely BC. A hot bath for gold nanoparticles. *Phys org.* <https://phys.org/news/2011-08-hot-gold-nanoparticles.html>%0AThis. Published 2011.
 39. Abolfazl Akbarzadeh, Rogaie Rezaei-Sadabady, Soodabeh Davaran *et al.* Liposome: Classification, preparation, and applications. *Nanoscale Res Lett.*

- 2013;8:102-111. *Nanoscale Research Letters*.
40. Sajja HK, P.East M, Mao H, Y.Wang A, Nie S, Yang L. Development of Multifunctional Nanoparticles for Targeted Drug Delivery and Non-invasive Imaging of Therapeutic Effect. *Curr Drug Discov Technol*. 2009;6:1199-1216.
 41. Singh P, Pandit S, Mokkapati VRSS, Garg A, Ravikumar V, Mijakovic I. Gold nanoparticles in diagnostics and therapeutics for human cancer. *Int J Mol Sci*. 2018;19:1979.
 42. R.Gupta and Deepika Sharma. Evolution of Magnetic Hyperthermia for Glioblastoma Multiforme Therapy. *ACS Chem Neurosci*. 2019;10:1157-1172.
 43. Huan Meng, Min Xue, Tian Xia *et al*. Use of Size and a Co-polymer Design Feature to Improve the Biodistribution and the Enhanced Permeability and Retention Effect of Doxorubicin-loaded Mesoporous Silica Nanoparticles in a Murine Xenograft Tumor Model. 2014;5:4131-4144.
 44. Cheng B, He H, Huang T, *et al*. Gold Nanosphere Gated Mesoporous Silica Nanoparticle Responsive to Near-Infrared Light and Redox Potential as a Theranostic Platform for Cancer Therapy. *Physiol Behav*. 2016;176:139-148.
 45. C.Anselmo A, Mitragotri S. Nanoparticles in the clinic : An update. *Bioeng Transl Med*. 2019;4:1-16.
 46. B.Petri, A.Bootz, A.Khalansky *et al*. Chemotherapy of brain tumour using doxorubicin bound to surfactant-coated poly (butyl cyanoacrylate) nanoparticles : Revisiting the role of surfactants. In: *Elsevier*. Vol 117. ; 2007:51-58.
 47. Simon Guerrero, Eyleen Araya, Jenny L Fiedler *et al*. Improving the brain delivery of gold nanoparticles by conjugation with an amphipathic peptide R esearch A rticle. *Futur Med*. 2010;5:897-913.
 48. HH G, D H-C, DW G, H G. Nanoparticle uptake: The phagocyte problem. *Nano Today*. 2015;10, 4874-510.
 49. Monopoli, M., Walczyk, D., Abigail Campbell *et al*. Physical-chemical aspects of protein corona: relevance to in vitro and in vivo biological impacts of nanoparticles. *J Am Chem Soc*. 2011;133, 2525-2534.
 50. ZHANG F, Liu M, Wan H. Discussion about Several Potential Drawbacks of PEGylated Therapeutic Proteins. *Biol Pharm Bill*. 2014;37:335-339.
 51. McCall RL, Cacaccio J, Wrabel E, Schwartz ME, Coleman TP, Sirianni RW. Pathogen-inspired drug delivery to the central nervous system. *Tissue Barriers*. 2014;1-12.
 52. Kristensen M, Brodin B. Routes for Drug Translocation Across the Blood-Brain Barrier : Exploiting Peptides as Delivery Vectors. *J Pharm Sci*. 2017;106:2326-2334.
 53. Nicole F. Steinmetz P. Viral nanoparticles as platforms for next-generation therapeutics and imaging devices. *Nanomedicine*. 2011;6:634-641.
 54. Koudelka KJ, Pitek AS, Manchester M, Steinmetz NF. Virus-Based Nanoparticles as Versatile Nanomachines. *Annu Rev Virol*. 2016;2:379-401.
 55. Lia J, Liangb H, Liuc J, Wang Z. Poly (amidoamine) (PAMAM) dendrimer mediated delivery of drug and pDNA / siRNA for cancer therapy Poly (amidoamine) (PAMAM) dendrimer mediated delivery of drug and pDNA / siRNA for cancer therapy. *Int J Pharm*. 2018;546:215-225.
 56. Jameson JL. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 20th ed. New York: The

- McGraw-Hill Education; 2018.
57. Huey R, Hawthorne S. The potential use of rabies virus glycoprotein- derived peptides to facilitate drug delivery into the central nervous system : a mini review delivery into the central nervous system : a mini review. *J Drug Target.* 2017;25:379-385.
 58. Linhao You, Jing Wang, Tianqing Liu *et al.* Targeted Brain Delivery of Rabies Virus Glycoprotein 29-Modified Deferoxamine-Loaded Nanoparticles Reverses Functional Deficits in Parkinsonian Mice. *ACS Nano.* 2018;12:4123-4139.
 59. Toivonen JM, Oliván S, Osta R. Tetanus Toxin C-Fragment: The Courier and the Cure? *Toxins (Basel).* 2010;2:2622-2644.
 60. Ovsepián S V., O'Leary VB, Ntziachristos V, Dolly JO. Circumventing Brain Barriers : Nanovehicles for Retroaxonal Therapeutic Delivery. *Trends Mol Med.* 2016;22:983-993.
 61. Tobias Hertzog, Martin Weber, Lars Greiffenberg *et al.* Antibodies Present in Normal Human Serum Inhibit Invasion of Human Brain Microvascular Endothelial Cells by *Listeria monocytogenes*. *Infect Immun.* 2003;71:95-100.
 62. Natalia L.Klyachko, Roberta Polak, Matthew J.Hanney *et al.* Macrophages with cellular backpacks for targeted drug delivery to the brain. *Biomaterials.* 2018;140:79-87.
 63. Pulvoza L, Bhide M. Outer Surface Proteins of *Borrelia* : Peerless Immune Evasion Tools. *BenthamScience.* 2014;15:75-88.
 64. Wang M-H, Kim KS. Cytotoxic Necrotizing Factor 1 Contributes to *Escherichia coli* Meningitis. *Toxins (Basel).* 2013;5:2270-2280.
 65. Qian Yang, Chuang Zhao, Jun Zhao *et al.* Photoresponsive nanocapsulation of cobra neurotoxin and enhancement of its central analgesic effects under red light. *Int J Nanomedicine.* 2017;12:3463-3470.
 66. Archita Biswas, Aparna Gomes, Jayeeta Sengupta *et al.* Nanoparticle-conjugated animal venom-toxins and their possible - therapeutic potential. *J Venom Res.* 2012;3:15-21.
 67. Chabra R, Tosi G, Graubruker A. Emerging use of nanotechnology in the treatment of neurological disorders. *Curr Pharm Des.* 2015;21:3111-3130.
 68. Ximena Castillo, Susana Castro-Obregón, Benjamin Gutiérrez-Becker *et al.* Rethinking the Etiological Framework of Neurodegeneration. *Front Neurosci.* 2019;13:1-25.
 69. Erkinen MG, Mee-Ohk Kim, Geschwind MD. Clinical Neurology and Epidemiology of the Major Neurodegenerative Diseases. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2018;10:1-44.
 70. Hajipour MJ, Santoso MR, Rezaee F, Aghaverdi H, Mahmoudi M, Perry G. Advances in Alzheimer ' s Diagnosis and Therapy: The Implications of Nanotechnology. *Trends Biotechnol.* 2017;35:937-953.
 71. Ewa B, Szwajgier D. Alzheimer's disease: review of current nanotechnological therapeutic strategies. *Expert Rev Neurother.* 2020;20:271-279.
 72. Harilal S, Jose J, Parambi DGT. Advancements in nanotherapeutics for Alzheimer ' s disease : current perspectives. *J Pharm Pharmacol.* 2019;71:1370-1383.
 73. G.Yiannopoulou, Konstantina, G.papageorgiu S. Current and future treatments for Alzheimer ' s disease. *Ther Adv Neurol Disord.* 2013;6:19-33.
 74. Anila Mathew, Takahiro Fukuda, Yutaka Nagaoka *et al.* Curcumin Loaded-PLGA

- Nanoparticles Conjugated with Tet-1 Peptide for Potential Use in Alzheimer ' s Disease. *PLoS One*. 2012;7:1-10.
75. Hossein Derakhshankhah, Soraya Sajadimajd, Samira Jafari *et al*. Novel Therapeutic Strategies for Alzheimer's disease: Implications. *Nanomedicine Nanotechnology, Biol Med*. 2020;24:102149.
 76. Okun MJA, S.Okun M. Diagnosis and Treatment of Parkinson Disease. *JAMA*. 2020;323:548-560.
 77. Lee H, S.Pienaar I. Disruption of the blood-brain barrier in parkinson's disease: curse or route to a cure? *Front Biosci*. 2014;19:272-280.
 78. Jinhong Xie, Xheyu Shen, Yasutaka Anraku KK and XC. Biomaterials Nanomaterial-based blood-brain-barrier (BBB) crossing strategies. *Biomaterials*. 2019;224:119491.
 79. Kyle S, Shikha S. Nanotechnology for the Detection and Therapy of Stroke. *Adv Heal Mater*. 2014:1-18.
 80. Deepaneeta Sarmah, Jackson Saraf HK. Stroke Management : An Emerging Role of Nanotechnology. *Micromachines*. 2017;8:262-275.
 81. Tang W, Fan W, Lau J, Deng L, Shen Z, Chen Xi. Emerging blood-brain-barrier-crossing nanotechnology for brain cancer theranostics. *R Soc Chemistry*. 2019;48:2967-3014.
 82. Maeda, H. & Matsumura Y. A new concept for macromolecular therapeutics in cancer chemotherapy: mechanism of tumortropic accumulation of proteins and the antitumor agent smancs. *Cancer Res*. 1986;46:6387-6392.
 83. P.N.Navya, Kaphle A, S.PSeinivas, Bhargava SK, M.Rotello V, Daima HK. Current trends and challenges in cancer management and therapy using designer nanomaterials. *Nano Conver*. 2019;6:23.